

Finalidade:

Discos impregnados para uso na identificação de estreptococos alfa hemolíticos (*Streptococcus pneumoniae*).

Registro ANVISA:

100.970.10-135

LB 170731
Rev. 11 – 08/2024

Apresentação:

640601 - OPTOQUINA O PNEUMOCOCO FR 25DISCOS

1. INTRODUÇÃO

A optoquina ou cloridrato de etil-hidrocupreína, um derivado da quinina, inibe seletivamente o crescimento de *Streptococcus pneumoniae* em concentrações muito baixas (5 µg/mL ou menos), podendo eventualmente inibir o crescimento de outros estreptococos alfa-hemolíticos, porém apenas em concentrações maiores. A prova de sensibilidade à optoquina é indicada para a diferenciação entre estreptococos alfa-hemolíticos e pneumococos (*S. pneumoniae*).

Os Pneumococos são normalmente sensíveis à optoquina, enquanto os Estreptococos, especialmente os Estreptococos alfa-hemolíticos, não o são, o teste tem sensibilidade maior que 95%, sendo considerado de baixo custo e simples de ser realizado.

A optoquina é uma droga solúvel em água que se difunde rapidamente em meio de cultura sólido. Para este teste, em geral, utiliza-se o disco de optoquina de 6 mm contendo 5 µg da droga, as células do *Streptococcus pneumoniae* que rodeiam o disco sofrem lise, devido à variação da tensão superficial, e é produzida uma área de inibição, o teste tem sensibilidade maior que 95%, sendo considerado de baixo custo e simples de ser realizado.

A optoquina pode inibir outros Streptococcus do grupo viridans, mas apenas em concentrações muito elevadas.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/DISCO
optoquina	5µg

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

3. AMOSTRA

- Colônias de estreptococos α-hemolíticos suspeitos de serem *S. pneumoniae*, obtidas em ágar sangue de carneiro a 5% após 18-24h de incubação entre 35-37°C, colônias estas com aspecto mucóide e lustroso.

- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.

- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio

A optoquina é hidrossolúvel difundindo-se facilmente em ágar. Devido à ação detergente da optoquina, as células pneumocócicas são lisadas por uma variação na tensão superficial, o que resulta em uma zona de inibição de crescimento.

b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório devem ser armazenadas em temperatura de -20 a 8°C, condições em que se mantêm estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de

contaminação de qualquer natureza. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada, antes de sua utilização, em temperatura ambiente, podendo utilizar a incubação em estufa (± 37°C) para redução do tempo de secagem ou estabilização. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada. A água acumulada por condensação, ocasionada por alguma variação de temperatura, não influencia no desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento ou diminuição de espessura.

Devido a presença de substratos sensíveis, recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

c- Precauções e cuidados especiais

- O produto é destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais;
- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;
- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos Detrilab.
- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222, de 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Placas de ágar sangue de carneiro a 5%;
- *Swab* estéril;
- Alça bacteriológica;
- Bico de Bunsen;
- Estufa bacteriológica;
- Jarra para produção de tensão CO₂;
- Gerador de tensão de CO₂.
- Escala de McFarland.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

a- Preparar uma suspensão do microrganismo isolado correspondente a 0,5 da escala de McFarland;

b- Em uma metade ou um quadrante de uma placa de ágar sangue de carneiro a 5%, inocular por estrias (usando uma alça) uma colônia da bactéria em análise;

- c- Colocar um disco de optoquina 5µg no centro da zona inoculada (usando pinça estéril);
d- Incubar em estufa bacteriológica entre 35-37°C em tensão de CO₂ durante 18-24h;
e- Após a incubação, verificar a ocorrência de um halo inibitório de crescimento ao redor do disco, medindo-o com régua ou dispositivo adequado.

7. RESULTADOS

- Positivo (Sensível): Halo de inibição de 14 mm ou mais.
- Negativo (Resistente): Halo de inibição inferior à 14 mm ou ausência de halo.

Nota: O pneumococo pode apresentar halos < 14 mm, como os *Streptococos* do grupo viridans, neste caso o teste da bile solubilidade deve então ser realizado.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

Os resultados falsamente reagentes ou não reagentes, riscos associados à instabilidade, que poderiam levar a resultados errôneos, danos relacionados ao usuário, podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Incubação em temperatura inadequada.
- Tempo de incubação insuficiente.
- Interpretação equivocada de halos de inibição.
- Armazenamento ou transporte de amostra inadequado.
- Agentes etiológicos exigentes com relação aos meios de cultura.
- Necessidade de meios especiais para o crescimento de um agente infeccioso específico.
- Técnica de assepsia inadequada.
- Erro na conservação do material.
- Tempo longo entre a sementeira da amostra e análise.
- Tempo excessivo de incubação.
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas.
- Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico.
- Presença de perfis de resistência diferenciados.
- O Meio de ágar sangue utilizado deve conter sangue de carneiro entre 5 a 10%.
- A pré-incubação da placa em estufa por 5 minutos após a inoculação com o *swab* é importante para remover o excesso de umidade, que pode causar a difusão errática do antibiótico após a implantação dos discos.
- Observar critérios para escolha dos antibióticos apropriados para a bactéria em análise
- O uso de *swabs* a base de algodão não é recomendado pela possibilidade dos ácidos graxos naturais presentes no material interferirem no crescimento bacteriano.
- A temperatura de incubação deve ser rigorosamente controlada.
- A não incubação com geradores de CO₂ resulta em resultados falsamente aumentados.
- O tempo de incubação indicado não deve ser nem abreviado nem aumentado sob risco de se obterem resultados falsamente diminuídos (pouco tempo) ou falsamente aumentados (mais tempo).

9. CONTROLE DE QUALIDADE

- *Materiais necessários*

Cepas padrão: ATCC® (*American Type Culture Collection*) ou derivadas).

- *Controle de qualidade recomendado:*

Parâmetro	Resultado esperado
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	≥ 15 mm
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	Resistente
Disco não inoculado	Discos de 6 mm de diâmetro de coloração branca, com a sigla específica do produto (O)

-*Periodicidade*

Testar cada novo lote em uso com a cepa padrão (substituindo a amostra por esta) e em periodicidade definida pelo laboratório segundo sua rotina e necessidade.

- *Interpretação e avaliação*

Espera-se que cada cepa testada produza um halo inibitório dentro dos limites estabelecidos para controle.

Considerando que após aberto o frasco a tendência do antibiótico é ter sua potência diminuída com o passar do tempo, é normal o decréscimo dos valores dos halos de inibição. Uma vez que os valores atinjam pontos muito próximos ou inferiores aos limites mínimos preconizados, recomenda-se que os discos sejam desprezados.

Resultados alterados no controle de qualidade implicam em revisão completa de todos os componentes do sistema analítico. Nestas circunstâncias não se recomenda a liberação dos resultados até que sejam investigadas as causas do desvio de controle.

10. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
 - Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
 - Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.
- Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

11. REFERÊNCIAS

1. BALOWS A., HAUSLER, W.J. Jr., HERRMANN, K.L., ISENBERG, H.D., SHADOMY, H.J. Manual of clinical microbiology. 5th Ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1991.
2. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1st edition. 1991.
3. FINEGOLD, Sidney; Baron, Ellen Jo. Diagnostico microbiologico. Buenos Aires, Ed. MedicaPanamericana, 7a ed, 1989.
4. KONEMAN, Elmer; et al. Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 6 ed., 2010.
5. LENETE, Edwin H. Microbiologia clinica, Buenos Aires, Ed. Medica Panamericana, 3a ed., 1982.
6. MAHON, Connie R.; Manuselis Jr, George. Diagnostic microbiology. Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1 sted, 1985.
7. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 4: Detecção e identificação de bactérias de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013. 150p.: il.9 volumes ISBN.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone 041 36619000
www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-0410027
sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico in vitro.
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Européia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)

